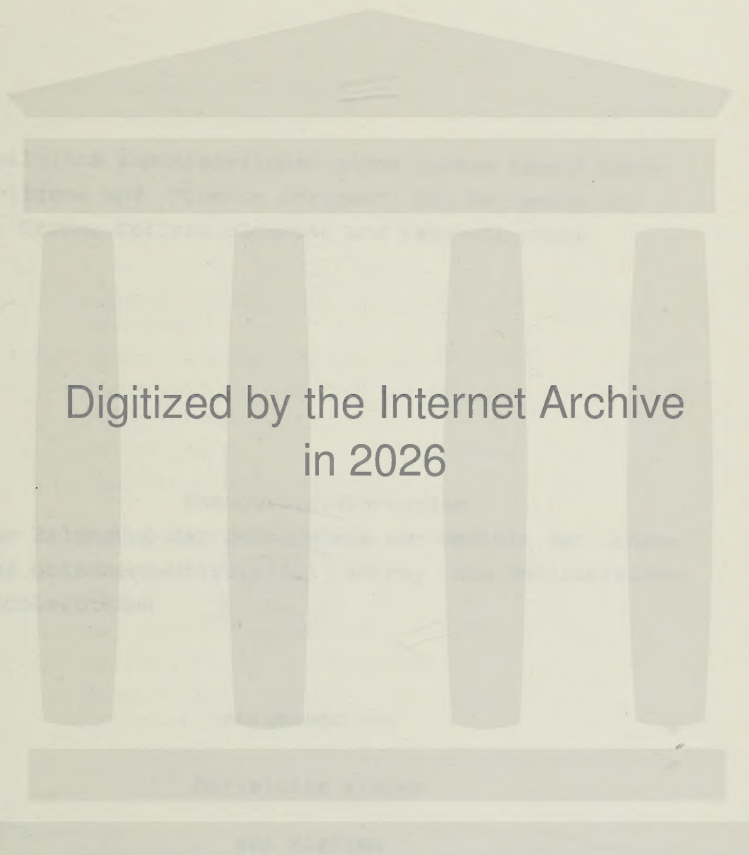


**ZELLULÄRE IMMUNREAKTIONEN GEGEN HUMANE FETALE
DARMANTIGENE UND "COMMON ANTIGEN" BEI PATIENTEN
MIT M. CROHN, COLITIS ULCEROSA UND LEBER-CIRRHOSE**

Marieluise Klages

1976



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555607_0067

Gesamtherstellung

Blasaditsch GmbH • 89 Augsburg 17 • Theodor-Heuß-Platz 3 • Telefon (0821) 51 85 63

Aus der II. Medizinischen Klinik und Poliklinik der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Zelluläre Immunreaktionen gegen humane fetale Darm-
antigene und "Common Antigen" bei Patienten mit
M. Crohn, Colitis ulcerosa und Leber-Cirrhose

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin der Johan-
nes Gutenberg-Universität Mainz, den Medizinischen
Fachbereichen

vorgelegt von

Marieluise Klages

aus Miehlen

Mainz

1976



Fachbereichsdekan: Professor Dr. Straub

1. Gutachter: Professor Dr. Dr. Meyer zum Büschenfeld

2. Gutachter: Professor Dr. Schölmerich

Inhaltsverzeichnis

	Seite
EINLEITUNG	1
Zelluläre Immunreaktionen	2
Humorale Immunreaktionen	4
MATERIAL UND METHODEN	6
1. Prüfung auf humorale und zelluläre Immunreaktionen	6
1.1. Präparation der Antigene	6
1.1.1 Humane, embryonale Dünn- und Dickdarm-antigene	6
1.1.2 Common Antigen (nach Suzuki (68))	6
1.2 Durchführung des Leukozyten-Migrations-Inhibitionstests	7
1.2.1 Materialien	9
1.3 Passive Hämagglutination	10
2. Patientengut und Kontrollen	11
2.1 Kontrollkollektiv aus gesunden Normalpersonen	11
2.2 Kollektiv der Patienten mit M. Crohn	11
2.3 Kollektiv der Colitis-Kranken	11
2.4 Gruppe der Patienten mit Lebercirrhose verschiedener Genese	12
3. Statistische Auswertung	12
ERGEBNISSE	13
DISKUSSION	21
SYNOPSIS	29
ZUSAMMENFASSUNG	34
LITERATUR	35
LEBENS LAUF	

EINLEITUNG

Die Enteritis regionalis (Morbus Crohn) ist eine entzündliche Erkrankung des Darmes, die erstmals im Jahre 1932 von CROHN (25) beschrieben wurde. Sie ist charakterisiert durch eine transmurale Entzündung, die den Gastrointestinaltrakt an allen Stellen befallen kann, besonders häufig jedoch im terminalen Ileum und im Dickdarm auftritt. Das histologische Bild zeigt typischerweise Infiltrationen von Lymphozyten, Monozyten und Plasmazellen in allen Schichten der Darmwand, in 60 - 70 % der Fälle werden Riesen Zellgranulome ohne zentrale Verkäsung gefunden. Diagnostische Hinweise sind segmentaler Befall mit Stenosierung des Lumens in den befallenen Abschnitten, das Auftreten von inneren und äußeren Darmfisteln sowie charakteristische anale und perianale Läsionen. Das Krankheitsbild ist gekennzeichnet durch krampfartige abdominelle Beschwerden, Durchfälle und Gewichtsverlust. Oft gehen diese Symptome mit Mangelerscheinungen einher, die durch eine eingeschränkte Resorption im Dünndarm bedingt sind. Des weiteren können verschiedene extraintestinale Begleiterkrankungen auftreten, wie ankylosierende Spondylitis, Arthritis, Iridocyclitis, Leberbefall und Erythema nodosum.

Erhebliche differentialdiagnostische Schwierigkeiten können bei der Abgrenzung eines M. Crohn des Dickdarms von einer Colitis ulcerosa auftreten. Letztere ist histologisch durch eine auf die Schleimhaut des Dickdarms begrenzte Entzündung charakterisiert, die kontinuierlich größere Strecken von Colon und Rectum befällt. Blutig-schleimige Durchfälle mit Tenesmen sind typisch, des weiteren können extraintestinale Begleiterkrankungen an Augen, Gelenken und der Haut, wie beim M. Crohn, auftreten.

Bei beiden entzündlichen Darmerkrankungen sind Ätiologie und Pathogenese noch ungeklärt. Neuere Befunde weisen auf

eine genetische Disposition (1,9,40,47) und auf den Einfluß von Umweltfaktoren hin. In den letzten Jahren haben sich weiterhin in steigendem Maße Hinweise auf die Rolle zellulärer und humoraler Immunreaktionen im Verlauf des M. Crohn und der Colitis ulcerosa ergeben. Im folgenden sollen die wichtigsten Befunde im Hinblick auf eine Immunpathogenese dieser Erkrankungen aufgezeigt werden.

a) Zelluläre Immunreaktionen

Erste Untersuchungen von PERLMANN und BROBERGER 1963 (50) zeigten, daß periphere Lymphozyten von Patienten mit Colitis ulcerosa in vitro zytotoxische Wirkungen auf Kulturen humaner fetaler Colonepithelien als "target cells" entfalten. WATSON und Mitarbeiter stellten fest, daß auch Lymphozyten von Crohn-Patienten diese Fähigkeit besitzen und daß zellfreie Extrakte aus Lymphozyten ebenso zytotoxisch für Colon-Epithelien sind (77,78).

Ergebnisse von SHORTER und Mitarbeitern (56-59) zeigten, daß sich die Zytotoxizität der peripheren Lymphozyten von Patienten mit entzündlichen Darmerkrankungen ausschließlich gegen Colonepithelien, nicht gegen Dünndarmschleimhaut richtet, und daß sie durch Präinkubation der Effektorzellen mit Antithymozytenserum unterdrückt werden kann. In weiteren Untersuchungen konnte schließlich gezeigt werden, daß überraschenderweise auch normale Lymphozyten durch Präinkubation mit Serum von Colitiskranken zytotoxisch werden (60).

DAVID und Mitarbeiter (26,27) beobachteten, ebenso wie BLOOM und BENNET (15), daß eine Antigenzugabe zu einer Mischung von Leukozyten und sensibilisierten Lymphozyten in vitro eine spezifische Hemmung der Leukozytenmigration bewirkt. Dieser Effekt läßt sich mit Extrakten aus den abgetöteten immunkompetenten Zellen nicht erreichen und ist im Gegensatz zur Zytotoxizität vom Vorhandensein vitaler sensibilisierter Lymphozyten abhängig, die bei Antigen-

kontakt einen die Leukozytenmigration hemmenden Faktor (MIF) ausscheiden (8,14,15). Diese Antigen-spezifisch induzierte Freisetzung eines Mediators aus Lymphozyten bildete die Grundlage eines in vitro-Testsystems (Leukozytenmigrationsinhibitions-Test, LMIT) zum Nachweis zellulärer Immunreaktionen. Übereinstimmende Befunde von BENDIXEN und SØBORG (5,6,66,67) sowie anderer Autoren zeigten, daß eine positive Korrelation zwischen Migrationshemmung und dem Nachweis einer zellulären Immunität in vivo besteht.

Der Leukozyten-Migrations-Inhibitions-Test wurde in der von BENDIXEN beschriebenen (7), ursprünglichen Form bei zahlreichen Erkrankungen verwendet. Es liegen unter anderem Untersuchungen bei Thyreoiditis (22,76), Addisonscher Erkrankung (49), perniziöser Anämie (20) und bei Sarcoidose (79) vor.

Erste Untersuchungen bei Patienten mit M. Crohn und Colitis ulcerosa wurden von BENDIXEN 1967 und 1969 (5,6) mit Hilfe dieses Testsystems durchgeführt. Dabei wurden Antigene aus menschlicher, fetaler Dünn- und Dickdarmschleimhaut verwendet, die bei Patienten mit Colitis ulcerosa, nicht aber bei Crohn-Kranken, eine spezifische Migrationshemmung induzierten. Diese Beobachtungen mit Hilfe des LMIT entsprechen nur teilweise denen von SHORTER et al. (56-64), die in vitro eine Zytotoxizität gegen Colonepithelien bei beiden entzündlichen Darmerkrankungen nachweisen konnten. Sie stehen ebenfalls in teilweisem Widerspruch zu den Befunden von RICHENS und WILLIAMS (54), die Extrakte aus Darmpräparaten operierter Crohn-Kranker als Testantigene im LMIT verwendeten und in der Gruppe der Patienten mit Enteritis regionalis lediglich im akuten Schub zelluläre Immunreaktionen gegen Bestandteile der Colon-Mucosa beobachteten. Die Beurteilung dieser Ergebnisse ist jedoch eingeschränkt, da durch natürliche bakterielle Kontamina-

tion, bzw. durch ein "Crohn-spezifisches" Antigen eine Beeinflussung des Testsystems möglich ist.

b) Humorale Immunreaktionen

Untersuchungen von PERLMANN und LAGERCRANTZ (51,52,38,39,40) sowie von THAYER et al. (69) konnten zeigen, daß 30 % der Patienten mit M. Crohn und Colitis ulcerosa Antikörper gegen Bestandteile von Colonmucosa besitzen. Diese erwiesen sich im Gewebstest auch bei Zugabe von Komplement als nicht zytotoxisch.

PERLMANN und LAGERCRANTZ konnten weiterhin eine Kreuzantigenität zwischen Colonepithelien und Common Antigen (52), einem enterobakteriellen Oberflächenantigen, das zuerst von KUNIN beschrieben wurde (36,37) nachweisen. Patienten mit M. Crohn und Colitis ulcerosa besitzen signifikant erhöhte Antikörpertiter gegen dieses Antigen (69), das vielen Enterobakterien gemeinsam ist, in besonders hoher Konzentration jedoch in Coli-Keimen der serologischen Gruppe O14 gefunden wurde. BULL und Mitarbeiter (21) konnten bei Colitis-Kranken und, weniger häufig, auch bei Patienten mit M. Crohn verzögerte Immunität gegen dieses Antigen nachweisen.

Die vorliegende Studie umfaßt die Prüfung zellulärer und humoraler Immunreaktionen gegenüber menschlichen embryonalen Darmantigenen und bakteriellen, mit Darmschleimhaut kreuzreagierenden Oberflächenantigenen bei Patienten mit M. Crohn und Colitis ulcerosa sowie Untersuchungen zur Korrelation zwischen humoralen und zellulären Immunphänomenen. Als weiteres Kollektiv wurden Patienten mit Lebercirrhose in die Studie einbezogen. TRIGER und Mitarbeiter hatten bei Kranken mit Fettleber, Hepatitis und Lebercirrhose unterschiedlicher Ätiologie signifikant erhöhte Antikörpertiter

gegen enterobakterielle Oberflächenantigene und Extrakte aus Rattencolon nachgewiesen (71), und analoge Befunde mit Common Antigen als Testantigen liegen von PRYTZ et al. vor (53). Es stellte sich somit die Frage, ob auch zelluläre Immunreaktionen gegen die genannten Antigene auftreten.

Als Test-Systeme wurden die passive Hämagglutination und der Leukozytenmigrations-Inhibitionstest in der modifizierten Zweiphasentechnik nach THOR (70) und SODOMANN (65) gewählt, die zur Prüfung von Proteingemischen besser geeignet ist als die ursprüngliche Einphasentechnik (48).

MATERIAL UND METHODEN

1. Prüfung auf humorale und zelluläre Immunreaktionen

Humorale und zelluläre Immunreaktionen bei Patienten mit M. Crohn, Colitis ulcerosa und Lebercirrhose gegenüber humanen, embryonalen Darmantigenen und Common Antigen wurden mit Hilfe des Migrations-Inhibitionstests und des passiven Hämagglutinationstests untersucht.

1.1. Präparation der Antigene

1.1.1 Humane, embryonale Dünn- und Dickdarmantigene

Dünndarm und Colon menschlicher Feten wurden unter sterilen Kautelen entnommen und aufgearbeitet. Das Gewebe wurde aufgeschnitten, 24 Stunden bei Raumtemperatur in steriler Saccharose-Lösung gewaschen und anschließend bei 4 °C homogenisiert. Es folgte Zentrifugation des Homogenates bei 1700 g über 15 Minuten. Der Mitochondrien und Mikrosomen enthaltende Überstand wurde anschließend mit 20000 g in einer präparativen Ultrazentrifuge 15 Minuten bei 5 °C zentrifugiert. Im Überstand verblieben Mikrosomen und lösliche Proteine, die als Antigenfraktion für die weiteren immunologischen Untersuchungen lyophilisiert und bei -70 °C aufbewahrt wurden. Die chromatographische Eiweißbestimmung des Lyophilisats erfolgte nach Biuret und ergab den Gehalt an Protein bezogen auf das Trockengewicht: für das Dünndarmantigen eine Konzentration von 0,5 mg Protein / mg Lyophilisat, für das Colonantigen 0,1 mg Protein / mg Lyophilisat.

1.1.2 Common Antigen (nach Suzuki (68))

Coli-Keime der serologischen Gruppe O 14 wurden von Blutagarplatten in Traubenzuckerbouillon überimpft und

24 Stunden bei 37 °C angezüchtet. Nach dem Abtrennen der Nährlösung durch Zentrifugation Aufnehmen der Keime in sterilem Aqua dest. und einstündiges Erhitzen im Wasserbad auf 100 °C. Erneutes Zentrifugieren über 10 Minuten bei 23.500 g schied Zellbruchstücke im Sediment von den im Überstand gelösten O-Antigenen und Common Antigen. Letztere wurden durch 85 % Äthanollösung getrennt, wobei das O-Antigen ausfiel. Durch Trocknung in sterilen Petrischalen bei 37 °C wurde Common Antigen in reiner Form gewonnen, anschließend erneut in sterilem Aqua dest. suspendiert und dann lyophilisiert.

1.2 Durchführung des Leukozyten-Migrations-Inhibitionstests

1. Phase:

Leukozytenseparation nach Kissmeyer-Nielssen (35): durch Venenpunktion wurden von jedem Probanden 60 ml Blut gewonnen, heparinisiert und in sterilen Erlenmayer-Kolben mit Eisenpulver im Verhältnis 300 mg Fe / 10 ml Blut versetzt, um Granulozyten und Monozyten abzutrennen. Gründliche Durchmischung durch zehnmütiges Schütteln im Wasserbad bei 37 °C, anschließend für 30 Minuten Sedimentation in hohen Reagenzgläsern mit Hilfe von Dextran im Verhältnis 1:4 (ein Teil Dextran, drei Teile Blut). Hierdurch wurden die Erythrozyten von den im Überstand befindlichen Lymphozyten abgetrennt. Um letztere zu isolieren, wurden jeweils 3 ml Lymphoflot-Lösung in schmale Zentrifugenröhrchen gegeben, mit der gleichen Menge des bei der Sedimentation gewonnenen Überstandes überschichtet und in einer Sorvalzentrifuge für 10 Minuten mit 1150 g zentrifugiert. Danach fand sich an der Grenze zwischen beiden Phasen ein dichter Ring von Lymphozyten, der mit Hilfe einer Pasteur-Pipette aufgenommen und in ein Reagenzglas mit ca. 1 ml TC-Medium 199 gegeben wurde. Anschließend dreimaliges Waschen der Zellen in TC 199 und Zentrifugieren bei 190 g.

Zur Herstellung der Inkubationsansätze wurden 400 mcg der Darmantigene (bezogen auf den Proteingehalt) und 400 mcg Common Antigen (Trockengewicht) in 0,4 mg Aqua dest. gelöst und mit 1,6 ml TC-Medium 199 und 0,2 ml AB-Serum versetzt. Jedem Ansatz wurden die aus 20 ml Blut gewonnenen Lymphozyten zugegeben. Inkubation der Ansätze für 72 Stunden in luftdicht verschlossenen Reagenzgläsern bei 37 °C. Anschließend erfolgte eine zehnminütige Zentrifugation mit 1700 g. Der zellfreie Überstand der Inkubationsansätze diente in der zweiten Phase als Testmedium.

2. Phase:

Von gesunden, immer wieder verfügbaren Spendern wurde venöses Blut in 20 ml Einmalspritzen mit 2 ml Dextran und 0,5 ml Heparin entnommen. Die aufrecht stehenden Spritzen wurden eine Stunde bei 37 °C inkubiert; danach Abspritzen der im Überstand befindlichen Leukozyten in Spitzröhrchen mittels umgebogener steriler Kanüle und Zentrifugieren bei 190 g über 10 Minuten.

Das Sediment, bestehend aus Leukozyten und wenigen noch verbliebenen Erythrozyten, wurde in ca. 5 ml NH_4Cl suspendiert und 20 - 25 Minuten hämolysiert. Danach verblieben nur noch Leukozyten in der Lösung, die durch Zentrifugation abgetrennt und dreimal in TC 199 gewaschen wurden. Anschließend Aufnehmen der isolierten Leukozyten in einer Mischung von TC 199 und AB-Serum im Verhältnis 1:10 und Aufziehen dieser Lösung in sterilen Glaskapillaren. Diese wurden am unteren Ende mit Knetmasse verschlossen und in einem Reagenzglas mit Korkboden 7 Minuten bei 60 g zentrifugiert. Danach fand sich in den Kapillaren an dem mit Knetmasse verschlossenen Ende eine dicht gepackte Zone mit Leukozyten. Diese wurde mit Hilfe eines Glasschneiders in 4 - 5 etwa 2 mm lange Leukozyten enthaltende Kapillarstückchen zerlegt, die einseitig mit Silikonfett verschlossen wurden. Anschließend

Fixation dieser Glasröhrchen am Rande der Migrationskammern mittels Silikonfett und Füllung der Kammern mit je 0,5 ml Überstand aus der ersten Testphase.

Kontrollansätze: Kapillare + 0,5 ml Kontrollmedium

Kapillare + 0,5 ml Antigenmedium (TC 199 +
AB-Serum + 100 mcg des
jeweiligen Antigens)

Alle Ansätze wurden vierfach parallel durchgeführt.
Zuletzt luftdichter Verschuß der Kammern durch Deckgläschen, die über einen Silikonfilm fixiert wurden, und 18-stündige Inkubation bei 37 °C.

Die Auswertung erfolgte unter planimetrischer Messung der Migrationshöfe und Bestimmung des Migrationsindex (MI) aus:

$$MI = \frac{\text{Fläche der Migrationshöfe der Kontrollen mit Antigen}}{\text{Fläche der Migrationshöfe der Kontrollen ohne Ag.}}$$

Die Bestimmung dieses Migrationsindex dient als ständige Qualitätskontrolle der Testbedingungen. Von diesem Ergebnis ist die Wertigkeit des MI aus

$$\frac{\text{Fläche der Ansätze mit Überständen aus der 1. Testphase}}{\text{Fläche der Kontrollansätze}}$$

abhängig.

1.2.1 Materialien

Leukozytenmigrationskammern der Fa. Greiner (Nürtingen).
Schmelzpunktbeständige Röhrchen, äußerer Durchmesser 1,3 mm als Kapillaren.

Reagenzien:

Eisenpulver reinst (Merck 3815)

Dextranlösung 5 % (PM 200000)

Lymphoflot (Biotest)

TC Medium 199 (Difco 596/72)

Siliconfett (Merck 7746)

Präparation der Reagenzien:

- a) Ammoniumchloridlösung 0,83 % in Aqua bidest.,
davon 95 ml + 5 ml Trispuffer 0,1 M, pH 8,0,
End-pH 7,2
- b) TC Medium 199: zum Gebrauch verdünnen und
pH einstellen auf 7,2 mit Natriumbicarbonat-
lösung. Zusatz von 0,1 mg Streptomycin und
200000 I.E. Penicillin zu jeweils 500 ml Medium.

Humanes AB-Serum: Complement inaktivieren bei 56 °C,
30 Minuten.

1.3 Passive Hämagglutination

Einer Aufschwemmung tanninisierten Hammel-Erythrozyten in Phosphatpuffer wurden gleiche Volumina der Testantigene zur Beladung zugegeben. Die Endkonzentration der Antigene betrug jeweils 0,05 mg pro ml auf den Eiweißgehalt (Darmantigene) bzw. auf das Trockengewicht (Common Antigen) bezogen. 30 minütige Inkubation der Ansätze bei 37 °C, anschließend Waschen. Aufschwemmung des Sediments im zehnfachen Phosphatpuffer-Volumen mit Zusatz von 1 %igem, inaktiviertem Meerschweinchenserum. Zentrifugation und Herstellung einer 0,25 %igen Endkonzentration der antigenbeladenen Erythrozyten. Durchführung der Titration im Mikrotitrierverfahren (Cooke, Engineering, Alexandria, Virginia, USA). Ablesen der Ergebnisse nach 24-stündiger Inkubation

bei Zimmertemperatur.

Aufgrund der Ergebnisse bei Normalpersonen wurde ein Titer von = 1:16 als signifikant erhöht bewertet.

2. Patientengut und Kontrollen

2.1 Kontrollkollektiv aus gesunden Normalpersonen

Es umfaßte 26 klinisch gesunde Spender, die immer wieder erreichbar waren, und bei denen keinerlei Hinweise auf pathologische Veränderungen im Bereich des Darmes oder der Leber vorlagen.

2.2 Kollektiv der Patienten mit M. Crohn

Es bestand aus 41 Personen, bei denen die Diagnose entweder allein röntgenologisch (58 %) oder zusätzlich biotisch (42 %) zweifelsfrei gesichert war. Ein Großteil der Patienten war zum Zeitpunkt der Untersuchung akut krank (53 %), andere befanden sich im Stadium der Remission.

17 der 41 Untersuchten standen unter immunsuppressiver Therapie (Kombination aus Azathioprin 1 - 2 mg/kg Körpergewicht und Prednisolon 5 - 10 mg/die oder jeden zweiten Tag), 24 dagegen hatten zu keiner Zeit Glucocorticoide und Azathioprin erhalten.

2.3 Kollektiv der Colitis-Kranken

Es umfaßte 31 Patienten. In 64 % der Fälle war die Diagnose ausschließlich anhand des Röntgenbildes gestellt worden, bei 36 % der Kranken war sie zusätzlich histologisch gesichert. Alle Probanden mit nicht völlig gesicherter Diagnose wurden von der Untersuchung ausgeschlossen.

2.4 Gruppe der Patienten mit Lebercirrhose ver- schiedener Genese

Dieses Kollektiv bestand aus 24 Personen, bei denen die Diagnose bis auf wenige Ausnahmen histologisch gesichert war. In den Fällen, bei denen keine Biopsie durchgeführt worden oder deren Ergebnis nicht verfügbar war, wurde die Diagnose anhand eindeutiger klinischer Kriterien gestellt (Elektrophorese, portale Hypertension, Oesophagusvarizen, Ascites, Laborparameter).

Aus technischen Gründen konnten bei einigen Patienten nicht alle genannten Untersuchungen durchgeführt werden.

3. Statistische Auswertung

Prüfung auf Unterschiede der Differenzen der in den verschiedenen Krankheitsgruppen mit den jeweiligen Testantigenen ermittelten MI-Mittelwerte mit Hilfe der Varianzanalyse im Simultan- und Einzelvergleich (t-Test).

Um die Befunde leichter überschaubar zu machen, wurden die Ergebnisse der einzelnen Austestungen in ihrer relativen Häufigkeit angegeben, obwohl relativ kleine Patientenkollektive untersucht wurden.

ERGEBNISSE

Die Ergebnisse der Untersuchungen im Leukozyten-Migrations-test (LMIT) sind in den Abbildungen 1-3 graphisch dargestellt. Eine Zusammenfassung wird in Tabelle I gegeben.

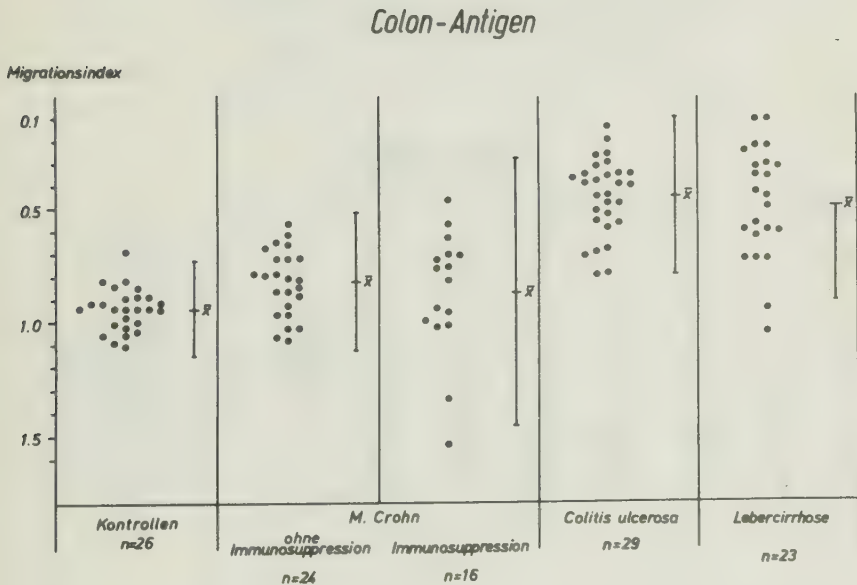


Abb. 1

Dünndarm-Antigen

Migrationsindex

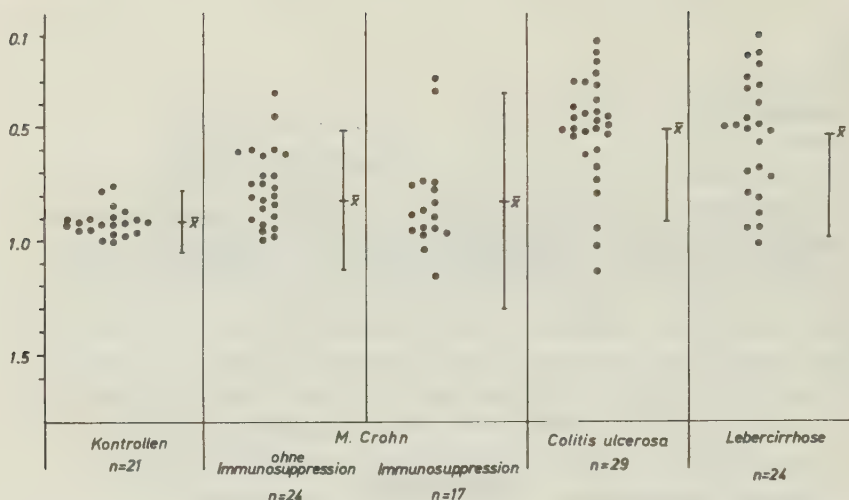


Abb. 2

Common-Antigen

Migrationsindex

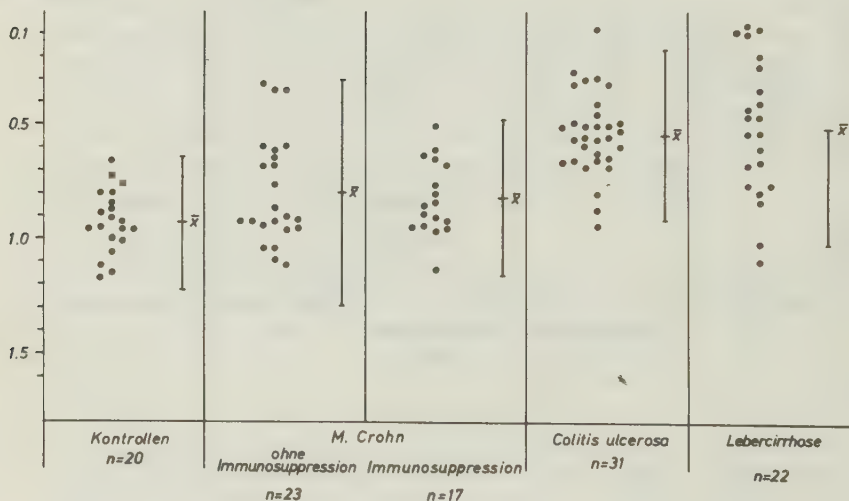


Abb. 3

Abb. 1-3:

Verteilung der Migrationsindices bei Prüfung der zellulären Immunität mit Hilfe des LMIT gegenüber verschiedenen Testantigenen bei Normalpersonen, Patienten mit M. Crohn,

Colitis ulcerosa und Lebercirrhose. Testantigene: humanes fetales Colon-Antigen (Abb. 1), humanes fetales Dünndarm-Antigen (Abb. 2), Common Antigen (Abb. 3). Eingezeichnet sind das arithmetische Mittel ($\bar{x}$), sowie die 95 %igen Vertrauensgrenzen. Das Wahrscheinlichkeitsintegral P wurde als 2 x P bzw. 1 x P angegeben.

	95% - VERTRAUENSGRENZEN		
	Colon-Antigen	Dünndarm-Antigen	Common-Antigen
	$\bar{x} = 0.9451$	$\bar{x} = 0.9178$	$\bar{x} = 0.9260$
Kontrollen	0.7321 - 1.1581	0.7826 - 1.0530	0.6367 - 1.2153
	unterhalb der 95%-VERTRAUENSGRENZEN (%)		
Colitis ulcerosa	93	86	71
M. Crohn Immunsuppression	38	29	12
M. Crohn ohne Immunsuppression	38	50	26
Lebercirrhose	91	75	64

Tabelle I

Oberer Teil:

Mittelwerte und 95 % Vertrauensbereich der Mittelwerte bei Kontrollansätzen mit Colon-Antigen, Dünndarm-Antigen und Common Antigen im LMIT.

Unterer Teil:

Prozentsatz der Migrationsindizes unterhalb des 95 % Vertrauensbereichs der entsprechenden Antigen-Kontrolle bei Colitis ulcerosa, M. Crohn und Lebercirrhose.

Die Normbereiche für die Migrationsindices wurden in Form der 95 % Konfidenzgrenzen des Kontrollkollektivs festgelegt. Indices unterhalb dieses Bereichs zeigten eine Hemmung der Leukozytenmigration an, die als Korrelat für das Vorliegen einer zellulären Immunität gilt.

Die Normbereiche für die Migrationsindices in den jeweiligen Antigenansätzen sind aus dem oberen Teil der Tabelle I zu entnehmen. Bei den Versuchen mit Colonantigen lag der untere Grenzwert des 95 %-Vertrauensbereiches für das Normalkollektiv bei 0,7321, in den Ansätzen mit Dünndarmantigen bei 0,7826, und für die Untersuchungen mit Common Antigen ergab sich ein unterer Grenzwert von 0,6367.

Die Gruppe der Crohn-Patienten, die nicht unter einer immunsuppressiven Therapie standen, zeigte bei den Untersuchungen mit Colonantigen zu 38 % eine Hemmung der Leukozyten-Migration, denn bei 9 von 24 Untersuchten ergab sich ein MI unterhalb des Normbereichs. Unter Verwendung von Dünndarmantigenen wurden bei 12 von 24 (50 %) der Probanden dieser Gruppe Werte ermittelt, die auf eine Migrationshemmung schließen ließen, während bei den Versuchen mit Common Antigen dieser Prozentsatz bei 26 % (6 von 23) lag.

Das Kollektiv der Crohn-Patienten, die immunsuppressiv behandelt worden waren, zeigte bei Verwendung von Colon-Antigen ebenfalls zu 38 % (6 von 16) eine Migrationshemmung, bei Ansätzen mit Dünndarmantigen waren es 29 % (5 von 17), und 12 % (2 von 17 Fällen) hatten eine zelluläre Immunität gegen Common Antigen.

In der Gruppe der Colitis-Patienten wurde Migrationshemmung durch Colon-Antigen in 93 % der Fälle (27 von 29) beobachtet, unter Verwendung von Dünndarmantigen lag dieser Prozentsatz bei 86 % (25 von 29). Bei den Untersuchungen mit Common Antigen ergab sich bei 22 von 31 Patienten (71 %) ein Migrationsindex unterhalb des Normbereichs.

Das Kollektiv der Patienten mit Lebercirrhose zeigte in den Ansätzen mit Colon-Antigen zu 91 % (21 von 23) Migrationshemmung, bei 18 von 24 Kranken (84 %), wurde dieses Verhalten auch unter Verwendung von Dünndarmantigen beobachtet, und die Untersuchungen mit Common Antigen erbrachten bei 64 %, das sind 14 von 22 Patienten dieser Gruppe, Indices unterhalb der Norm.

In der Tabelle II sind die Ergebnisse der statistischen Prüfung auf Unterschiede der Differenzen der in den verschiedenen Krankheitsgruppen mit den jeweiligen Testanti-

SIGNIFIKANZNIVEAU					
P = 0.05			P = 0.05 und P = 0.01		
Kontrollen	t ₁	1.971	1.503	6.302	6.300
	t ₂	2.253 θ 2)	1.208 θ	9.760	8.551
	t ₃	2.453	1.251	6.754	5.941
M. Crohn ohne Immunosuppression		0.333	4.379	4.507	
		0.819 θ	7.241	6.204	+
		1.108	4.269	3.528	+ 1)
M. Crohn Immunosuppression			4.346	4.492	
			7.266	6.373	+
			4.998	4.313	+
				0.461	θ
				0.674	
				0.578	θ
					Lebercirrhose

Varianzanalyse

Tabelle II

Varianzanalyse (Simultanvergleich): Statistische Prüfung auf signifikante Unterschiede der Differenzen der in den verschiedenen Krankheits-Kollektiven (Colitis, M. Crohn, Lebercirrhose) mit einem Testantigen ermittelten MI-

Mittelwerte. Da die Unterschiede zwischen den einzelnen Krankheitsgruppen mit den 3 Testantigenen identisch waren, wurden sie in dieser Abbildung zusammengefaßt dargestellt.

t = Prüfgröße im Simultanvergleich jeweils für Untersuchungen mit CA (t_1), Colon-Antigen (t_2) und Dünndarm-Antigen (t_3).

Fußnote 1): In den Ansätzen mit Dünndarm-Antigen ergeben sich nur auf dem 5 %-Niveau signifikante Unterschiede.

Fußnote 2): Im Einzelvergleich (t-Test) signifikanter Unterschied auf dem 5 %-Niveau in den Testansätzen mit Darmantigenen.

Die Gruppe der Crohn-Kranken mit oder ohne Immunsuppression zeigte im Simultanvergleich unabhängig vom verwendeten Testantigen keinen signifikanten Unterschied zu den gesunden Kontrollpersonen. Dagegen differierten die Patientengruppen mit Colitis ulcerosa und Lebercirrhose in allen drei Antigenansätzen signifikant vom Kontrollkollektiv ($P = 0,01$). Auch zwischen den Crohn-Kranken einerseits und den Patienten mit Colitis ulcerosa beziehungsweise Lebercirrhose andererseits ergab sich stets ein signifikanter Unterschied.

Im Einzelvergleich (t-Test) jedoch war die Gruppe der nicht immunsuppressiv behandelten Crohn-Patienten bei Verwendung von Darmantigenen, nicht aber von Common Antigen, signifikant von den Normalpersonen unterschieden. Die nicht unter Immunsuppression stehenden Kranken wiesen diesen Unterschied nicht auf. Alle anderen Kollektive verhielten sich im Einzelvergleich (t-Test) genau wie im Simultanvergleich.

In der Tabelle III werden die Ergebnisse der Prüfung auf humorale und zelluläre Immunitätsreaktionen gegen die drei Testantigene bei Patienten mit Colitis ulcerosa und M. Crohn verglichen.

Antigen	Migration-Inhibition	Antikörper-Titer (≥ 1:16)	Colitis		M. Crohn	
			n	%	n	%
Colon	+	-	13	76	5	21
	-	+	1	6	4	17
	+	+	3	18	3	12
	-	-	0	0	12	50
Dün- darm	+	-	13	81	6	24
	-	+	1	6	5	20
	+	+	2	13	3	12
	-	-	0	0	11	44
Common Antigen	+	-	8	47	4	17
	-	+	2	12	8	33
	+	+	3	18	1	4
	-	-	4	23	11	46

Tabelle III

Ergebnisse bei gleichzeitiger Prüfung von zellulärer und humoraler Immunität gegenüber den 3 Testantigenen bei Patienten mit Colitis ulcerosa und M. Crohn: Jeweils simultane Prüfung der humoralen und zellulären Immunität gegenüber CA und Darmantigenen bei den einzelnen Patienten einer Krankheitsgruppe. Angegeben wurden die Häufigkeiten der bei den vier möglichen Konstellationen von zellulärer zu humoraler Immunität in den Simultanansätzen beobachteten Ergebnisse (+ = Nachweis einer Immunreaktion, - = Fehlen einer Immunreaktion).

Die Antikörperbestimmung mit Hilfe der passiven Hämagglutination ergab in Abhängigkeit vom verwendeten Antigen in der Colitis-Gruppe zu 19 - 30 % und bei Patienten mit M. Crohn in 29 - 37 % der Fälle einen Titer von 1:16 und

mehr. In dem Kollektiv der Colitis-Kranken war in 47 - 81 % der Fälle ein normaler Antikörper-Titer mit dem gleichzeitigen Nachweis einer zellulären Immunität gegen das jeweils verwendete Antigen vergesellschaftet, während bei 6 - 12 % der Patienten hohe Antikörperkonzentrationen mit fehlender zellulärer Immunität einhergingen. Somit fand sich bei 59 - 87 % der untersuchten Personen mit diesem Krankheitsbild ein gegenläufiges Verhalten zwischen humoralen und zellulären Immunreaktionen.

Die gleiche Konstellation wurde bei 38 - 50 % der Crohn-Patienten beobachtet; 17 - 24 % der Kranken besaßen normale Antikörpertiter und gleichzeitig zelluläre Immunität gegen die Testantigene, in 17 - 33 % der Fälle korrelierte der Nachweis einer erhöhten Antikörperkonzentration mit dem Fehlen einer zellulären Immunreaktion gegen das jeweils verwendete Antigen.

DISKUSSION

Unsere Untersuchungen zeigen, daß gesunde Kontrollpersonen, bei denen keine Anzeichen für eine entzündliche Darmerkrankung oder eine Leberschädigung bestehen, keine zelluläre Immunität gegen menschliche mikrosomale Dünn- und Dickdarmantigene und gegen Common Antigen besitzen. BENDIXEN, der ebenfalls Colon- und Jejunalhomogenate verwendet hatte, kam zu dem gleichen Ergebnis (5,6) wie auch RICHENS und Mitarbeiter mit Untersuchungen im LMIT unter Verwendung von subzellulären Colon-Fraktionen aus Operationspräparaten von Crohn-Patienten als Testantigene. Unsere Befunde stehen außerdem im Einklang mit denen von BULL und Mitarbeitern, die bei gesunden Kontrollpersonen weder humorale noch zelluläre Immunreaktionen gegen Common Antigen feststellen konnten (21).

Die vorliegende Studie zeigt weiterhin, daß Patienten mit M. Crohn und Colitis ulcerosa zelluläre Immunität gegenüber den beschriebenen Antigenen in unterschiedlicher Häufigkeit besitzen. Bei Festlegung des Normbereichs in Form der 95 %igen Konfidenzgrenzen konnte in Abhängigkeit vom jeweils verwendeten Testantigen bei 71 % - 93 % der Colitis-Kranken verzögerte Immunität nachgewiesen werden; in der Gruppe der nicht immunsuppressiv behandelten Patienten mit M. Crohn besaßen 28 - 50 % und bei dem unter Immunsuppression stehenden Kollektiv mit diesem Krankheitsbild 29 - 38 % zelluläre Immunität gegen menschliche Darmantigene. Die Varianzanalyse erbrachte signifikante Unterschiede zwischen den gesunden Kontrollen und der Gruppe der Patienten mit Colitis ulcerosa unabhängig vom jeweils verwendeten Testantigen. Das Kollektiv der Crohn-Kranken, bestehend aus Patienten mit und ohne Immunsuppression, unterschied sich jedoch bei keinem der geprüften Antigene im LMIT statistisch signifikant vom Kontrollkollektiv, zwischen der Crohn-Gruppe einerseits und den Colitis-Kranken andererseits ergab sich

jedoch in beiden Testansätzen ein hoch signifikanter Unterschied.

Die beschriebenen Ergebnisse stehen in teilweiseem Widerspruch zu den Beobachtungen von BENDIXEN (5,6) der zelluläre Immunreaktionen gegen humane intestinale Schleimhaut-homogenate bei entzündlichen Darmerkrankungen mit Hilfe des Leukozyten-Migrations-Inhibitionstests in der Einphasentechnik untersuchte. Er fand bei Patienten mit Colitis ulcerosa in vitro eine starke Migrationshemmung durch die Testantigene, während diese Reaktion bei Crohn-Kranken weitgehend fehlte.

BENDIXEN konnte im LMIT unter Verwendung von Homogenaten aus anderen Organen (z.B. Schilddrüse, Leber, Niere) als Testantigene keine Migrationshemmung feststellen (6) und schloß daraus, daß die bei Colitis-Patienten nachgewiesene zelluläre Immunität organspezifisch gegen Darmantigene gerichtet ist. Er wies jedoch weiterhin nach, daß diese Reaktion nicht nur gegenüber Extrakten aus menschlichem Darmgewebe vorhanden ist, sondern darüber hinaus auch gegen Ratten-Colon gerichtet und somit nicht speziesspezifisch ist. Die in der Literatur bisher vorliegenden Ergebnisse von Leukozyten-Migrations-Inhibitionstests unter Verwendung von menschlichen Darmextrakten als Testantigenen weisen in Übereinstimmung mit unseren Befunden und mit den Resultaten im Zytotoxizitätstest (56 - 62) darauf hin, daß zelluläre Immunreaktionen im Verlauf der Colitis ulcerosa von pathogenetischer Bedeutung sind.

Die im LMIT bei Patienten mit Morbus Crohn bisher vorliegenden Befunde zeigen jedoch teilweise Widersprüche. So fehlten zelluläre Immunreaktionen gegenüber Darmantigenen in der Studie von BENDIXEN zwar weitgehend (5,6), RICHENS und Mitarbeiter (54) konnten dagegen bei 50 % der Patienten mit vorwiegend akutem Krankheitsbild eine verzögerte Immunität gegen die genannten Antigene nachweisen. Die Beurteilung dieser Befunde ist jedoch eingeschränkt, da Darm-Homogenate

aus Operationspräparaten Crohn-Kranker als Testantigene im LMIT verwendet wurden und somit die Möglichkeit einer Beeinflussung des Testsystems durch bakterielle Kontamination und "Crohn-spezifische" Antigene besteht.

In der vorliegenden Studie zeigten 26 - 50 % der nicht immunsuppressiv behandelten Crohn-Kranken eine Migrationshemmung gegenüber sterilen humanen Darm-Antigenen und Common Antigen; die meisten Migrationsindices lagen jedoch nur knapp unterhalb des 95 %igen Vertrauensbereiches für das Kontrollkollektiv. Einige Crohn-Patienten besitzen somit eine, allerdings nur schwach ausgeprägte zelluläre Immunität gegenüber den genannten Testantigenen.

Das in unseren Untersuchungen bei Patienten mit M. Crohn nachgewiesene weitgehende Fehlen einer verzögerten Immunität gegen Darmantigene steht mit der in der Literatur immer wieder diskutierten Annahme einer T-Zellen-Schwäche im Einklang. Es ist seit längerer Zeit bekannt, daß ähnlich wie bei der Sarkoidose zelluläre Immunreaktionen gegen Tuberkulin in mehr als 50 % der Fälle von M. Crohn fehlen. Dieser Befund ist bei beiden Erkrankungen bisher ohne schlüssige Deutung geblieben. Die Vermutung einer gestörten T-Zellen-Funktion lag nahe, wurde aber durch eine ungestörte zelluläre Immunreaktion gegenüber Mumps-Antigen, Trichophytin und einem Extrakt aus *Candida albicans* zunächst widerlegt (10). Untersuchungen von VERRIER JONES mit Dinitrochlorobenzen (DNCB) ließen aber dennoch eine gestörte zelluläre Immunreaktion beim M. Crohn vermuten, da nur 60 % der Patienten mit diesem Krankheitsbild gegenüber 100 % in der Kontrollgruppe eine positive Hautreaktion auf dieses Antigen entwickelten (32). Im Gegensatz zu diesen Befunden konnten jedoch BINDER et al. (10) sowie BOLTON et al. (17) keine abgeschwächte Reaktion auf eine Sensibilisierung mit DNCN und anderen Standardantigenen bei Crohn-Patienten feststellen. Desgleichen liegen widersprüchliche Ergebnisse in der Lymphozytenstimulation mit verschiedenen Mitogenen vor (75). Die Annahme einer T-Zellen-Schwäche wurde

jedoch durch erneute Untersuchungen von RICHENS et al. (55) bestärkt, die eine verminderte Transformationsrate von peripheren Lymphozyten Crohn-Kranker in der MLC nachweisen konnte. Es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, daß die mit verschiedenen Techniken bisher erhaltenen Hinweise für eine T-Zellen-Schwäche lediglich ein während der Erkrankung erworbenes Epiphänomen ohne pathogenetische Bedeutung aufzeigen.

Unsere Untersuchungen konnten weiterhin nachweisen, daß lediglich 12 - 38 % der immunsuppressiv behandelten Crohn-Patienten eine zelluläre Immunität gegen intestinale Antigene und Common Antigen im LMIT aufweisen. Es ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied zu Normalpersonen und zur Gruppe der nicht unter Immunsuppression stehenden Crohn-Kranken. Inwieweit aufgrund der unterschiedlichen Häufigkeit zellulärer Immunreaktionen in beiden Crohn-Kollektiven (s. Tab. I) eine Indikation zur immunsuppressiven Therapie dieser Erkrankung abzuleiten ist, kann anhand unseres zur Beantwortung dieser Fragestellung noch zu kleinen Krankengutes nicht entschieden werden.

Aus Tabelle II wird ersichtlich, daß beide statistische Prüfverfahren (Varianzanalyse im Einzel- und Simultanvergleich) hochsignifikante Unterschiede zwischen den Ergebnissen im LMIT von Crohn- und Colitis-Kranken erbrachten. Unter Verwendung subzellulärer Fraktionen aus humaner und fetaler Dünn- und Dickdarmschleimhaut als Testantigene im LMIT lassen sich diese Krankheitsbilder somit weitgehend voneinander abgrenzen. Dies ist jedoch im Einzelfall nicht immer von differentialdiagnostischer Relevanz.

Das in unseren Untersuchungen mit Hilfe des LMIT nachgewiesenen weitgehende Fehlen zellulärer Immunreaktionen gegen intestinale Antigene bei M. Crohn ist auch weiterhin nicht vereinbar mit den Befunden von SHORTER und Mitarbeitern (56-59), die eine zytotoxische Wirkung peripherer

Lymphozyten Crohn- und Colitis-Kranker in vitro gegenüber menschlichen Colonepithelien nachweisen konnten. Möglicherweise werden jedoch in diesen beiden Testsystemen unterschiedliche Antigene in den Darmfraktionen bzw. an den Zielzellen erfaßt, womit die abweichenden Ergebnisse erklärt werden könnten. Neueste Untersuchungen von SHORTER und Mitarbeitern (60-64) lassen darüber hinaus vermuten, daß bei den bisher vorliegenden Untersuchungen im Cytotoxizitätstest bei Patienten mit entzündlichen Darmerkrankungen nicht allein periphere T-Lymphozyten in ihrer Wirkung gegenüber Colon-Epithelien, sondern auch andere Subpopulationen (möglicherweise K-Zellen) erfaßt wurden. Diese Annahme wird weiterhin durch die Beobachtung unterstützt, daß auch periphere Lymphozyten von Normalpersonen nach Vorinkubation mit Crohn-Seren in vitro cytotoxisch gegen Colon-Epithelien wirksam sind. Somit werden wahrscheinlich im LMIT und im Cytotoxizitätstest verschiedene, nicht immer korrelierte zelluläre Immunreaktionen erfaßt.

Die in unseren Untersuchungen im LMIT bei Colitis ulcerosa und, weniger häufig, auch bei Patienten mit M. Crohn nachgewiesene verzögerte Immunität gegenüber Darmantigenen kann nicht als allein wirksamer pathogenetischer Faktor gewertet werden. Dies ist einmal aus der Beobachtung abzuleiten, daß der Nachweis einer Migrationshemmung nicht unbedingt mit der Aktivität des Krankheitsbildes korreliert ist, zum anderen aber auch aus unseren Befunden an Patienten mit Lebercirrhose, die in 75 - 91 % der Fälle eine zelluläre Immunität gegen Darmantigene besitzen, ohne jedoch darmkrank zu sein (Tab. I).

Das bei Patienten mit Lebercirrhose im LMIT besonders häufig nachweisbare Vorliegen einer verzögerten Immunität gegen intestinale Antigene läßt weiterhin den Schluß zu, daß grundsätzlich nur eine schwach ausgeprägte Immuntoleranz

gegenüber Darmantigenen besteht. Zur Frage, unter welchen Bedingungen in vivo die natürliche Immuntoleranz beendet wird, sind möglicherweise die Befunde von PERLMANN et al. (52) und LAGERCRANTZ et al. (39) von Bedeutung, die kreuz-reagierende Antigene in Colon-Epithelien und normalerweise im Darm vorkommenden Enterobakterien nachweisen konnten. Diese Beobachtung läßt vermuten, daß enterobakterielle Oberflächenantigene bei der Initiierung und Perpetuierung der Krankheitsbilder von pathogenetischer Bedeutung sind, zumal M. Crohn zu 90 % und Colitis ulcerosa zu 100 % in keimbesiedelten Darmregionen (termin. Ileum, Dickdarm) auftreten. Nach unseren Untersuchungen besitzen 26 % der Patienten mit M. Crohn und 71 % der Colitis-Kranken zelluläre Immunität gegenüber Common Antigen, einem enterobakteriellen Oberflächenantigen. Diese Befunde decken sich mit den von BULL et al. im Macrophagen-Migrationstest ermittelten Ergebnissen (21). In den beiden Krankheitsgruppen konnten wir darüber hinaus in ca. 30 - 37 % der Fälle signifikant erhöhte Antikörpertiter gegen Common Antigen nachweisen.

Unsere Untersuchungen zeigen weiterhin ein auffällig häufig zu beobachtendes gegenläufiges Verhalten von humoraler und zellulärer Immunität gegenüber intestinalen Antigenen und Common Antigen bei beiden Erkrankungen (Tab. 3). Hieraus ergeben sich möglicherweise Parallelen zu den Befunden von LAGRANGE et al. (41,42) und MACKANESS et al. (43-44), die in Immunisierungsversuchen mit Schafserythrozyten bei Mäusen einen Serumfaktor nachweisen konnten, der aus dem Zusammenwirken von Antigen und Antikörper entsteht (möglicherweise Immunkomplexe) und die Ausbildung einer zellulären Immunität gegen das verwendete Antigen inhibiert. In diesem Zusammenhang müßten weitere Untersuchungen zeigen, inwieweit eine Interaktion zwischen Antikörpern oder den von JEWELL (31) bei Crohn- und Colitis-Kranken in der aktiven Phase nachgewiesenen Immunkomplexen einerseits und sensibilisierten Lymphozyten andererseits für den beiden

Krankheitsbildern gemeinsamen Wechsel zwischen akutem Schub und Remission verantwortlich ist (WATSON, 78).

Die vorliegenden Untersuchungen konnten weiterhin zeigen, daß Patienten mit Lebercirrhose unterschiedlicher Ätiologie in einem hohen Prozentsatz zelluläre Immunität gegen intestinale Antigene und Common Antigen besitzen. Dies deckt sich mit den Befunden anderer Autoren auf humoraler Ebene. So berichten TRIGER et al. (71) über signifikant erhöhte Antikörpertiter gegen Rattencolon und Darmbakterien bei Patienten mit akuter und chronisch aktiver Hepatitis, Fettleber und Lebercirrhose. Nach den Befunden von BJØRNEBOE et al. (11,12) besitzen Patienten mit Lebercirrhose Antikörper gegen physiologischerweise im Darm vorkommende Bakterien. Weiterhin beobachteten KERAAN und Mitarbeiter (23) einen Anstieg der Immunglobuline nach porto-cavalen Shunt-Operationen. Diese Befunde lassen daran denken, daß der Leber eine wichtige Rolle bei der Elimination portal anfallender Antigene zukommt und daß diese Funktion bei einigen Lebererkrankungen gestört ist, wodurch eine humorale und zelluläre Immunantwort im extrahepatischen lymphoretikulären Gewebe ausgelöst werden könnte. Diese Annahme wird weiterhin durch die Befunde von TRIGER et al. (72) bestärkt, die bei vorimmunisierten Mäusen nach Applikation von Schafserythrozyten in die Vena portae unterhalb eines gewissen Dosis-Schwellenwertes eine deutlich reduzierte humorale und zelluläre Immunantwort im Vergleich zu der Reaktion nach Antigeninjektion in die Vena cava nachweisen konnten. Nach Gaben von Hepatotoxinen (Tetrachlorkohlenstoff) war dagegen ein Anstieg der Antikörper gegen Schafserythrozyten nach Injektion der Antigene in die Vena portae zu verzeichnen (73).

Über den Ablauf der Antigenelimination in der Leber sowie die daran beteiligten Zellsysteme besteht zur Zeit noch Unklarheit. Untersuchungen von ARNOLD et al. (4) konnten jedoch zeigen, daß Hepatozyten von Mäusen in der Lage sind, große Mengen von Fremdeiweiß aufzunehmen, in Phago-

lysosomen abzubauen und in immunologisch veränderter oder unveränderter Form durch die Galle auszuscheiden.

SYNOPSIS

Aus unseren Untersuchungen ergeben sich im Hinblick auf die Pathogenese von M. Crohn und Colitis ulcerosa folgende Erkenntnisse:

1. Patienten mit M. Crohn und Colitis ulcerosa besitzen eine zelluläre Immunität gegenüber Darmantigenen und Common Antigen in unterschiedlicher Häufigkeit.
2. Das Auftreten einer ZI gegen diese Antigene kann nicht als alleiniges pathogenetisches Prinzip angesehen werden.
3. Gegen Darmantigene besteht grundsätzlich nur eine schwach ausgeprägte Immuntoleranz.
4. Bei beiden Erkrankungen besteht auffällig häufig ein reziprokes Verhalten von zellulärer zu humoraler Immunität gegenüber den verwendeten Testantigenen.

Im folgenden sollen diese Befunde in eine Arbeitshypothese (SHORTER, 63, 64) für die Ätiopathogenese von M. Crohn und Colitis ulcerosa einbezogen werden, die auf drei grundlegenden Postulaten beruht:

- a) M. Crohn und Colitis ulcerosa entstehen nur bei pathogenetisch prädisponierten Individuen.
- b) Diese Erkrankungen stellen lediglich zwei polare Extreme ein und desselben pathogenetischen Grundprozesses dar.
- c) Sie resultieren aus einer Überempfindlichkeit gegenüber bakteriellen Antigenen in den befallenen Darmabschnitten.

ad a) Genetische Disposition

M. Crohn und Colitis ulcerosa treten familiär gehäuft auf (2,34,40). Diese Akkumulation kann nicht ausschließlich durch starke Umweltfaktoren bedingt sein, da nicht verwandte aber eng zusammenlebende Personen nicht über den Erwartungswert der Normalbevölkerung hinaus häufiger erkranken (47). Die bisher vorliegenden Befunde weisen vielmehr darauf hin, daß polygenische Faktoren zusammen mit Umwelteinflüssen bei der Auslösung dieser Erkrankungen von Bedeutung sind (47). Der stärkste Beweis für einen polygenischen Einfluß ergibt sich aus der Beobachtung, daß eine ankylosierende Spondylitis, bei der eine genetische Disposition gesichert ist (13,28) sowohl mit M. Crohn als auch mit Colitis ulcerosa assoziiert auftreten kann (45,46). Dies wäre durch die Annahme zu erklären, daß beide Erkrankungen an eine Anzahl gemeinsamer Gene gebunden sind, jedoch durch unterschiedliche Umwelteinflüsse ausgelöst werden. Es besteht jedoch auch die weitere Möglichkeit, daß beide Krankheitsbilder durch die gleichen Umweltfaktoren ausgelöst werden, die prädisponierenden Gene aber bei Patienten mit M. Crohn in größerer Anzahl als bei Colitis-Kranken vorliegen (47). Diese Folgerung leitet sich aus der Beobachtung ab, daß zwar die Colitis ulcerosa gehäuft bei Verwandten von Crohn-Patienten auftritt, das umgekehrte Verhalten jedoch nur selten zu beobachten ist (47).

ad b) Gemeinsamer Pathomechanismus

Extraintestinale Komplikationen wie Iridozyclitis, Erythema nodosum, aphthöse Stomatitis und Gelenkbefall treten bei beiden Erkrankungen auf. Diese Beobachtung stützt, ebenso wie die Ausführungen zur genetischen Disposition, die Annahme eines gemeinsamen Pathomechanismus für M. Crohn und Colitis ulcerosa. Der Nachweis verschiedener Autoimmunphänomene, die Besonderheiten des histologischen Bildes sowie der günstige therapeutische Effekt von Immun-

suppressiva (24) spricht zugunsten einer Immunpathogenese. Den bei Crohn- und Colitis-Patienten von einigen Autoren (38,39,51,52) und in dieser Studie nachgewiesenen Autoantikörpern gegen Darmantigene konnte bisher kein direkter Einfluß auf den Pathomechanismus zugesprochen werden (PERLMANN, 51). In der Literatur wird dagegen vornehmlich die Bedeutung zellulärer Immunreaktionen im Verlauf beider Erkrankungen diskutiert (63,64,78). Unsere Untersuchungen zeigen jedoch, daß diese nicht das alleinige pathogenetische Prinzip darstellen können. Inwieweit eine durch Antikörper vermittelte Zytotoxizität (K-Zellen) von Einfluß auf den Pathomechanismus ist, müßte weiter abgeklärt werden. Hinweise auf ihre mögliche Beteiligung ergeben sich aus dem Nachweis von Immunkomplexen im Serum von Patienten mit M. Crohn und Colitis ulcerosa (JEWELL, 31) sowie von IgG-Bindungen an Darmepithelien in akut entzündetem Crohn-Gewebe (GREEN, 29) und weiterhin aus den Befunden von CAMPBELL et al. (23), die eine Verminderung von K-Zellen im peripheren Blut Colitis-Kranker unter Azathioprin-Therapie nachwiesen. Diese Substanz hat einen nachweisbar kurativen Effekt bei beiden entzündlichen Darmerkrankungen (24,30).

Antikörper gegen Darmgewebe, Immunkomplexe sowie Reaktionen im Zytotoxizitätstest wurden bei den beiden Krankheitsbildern in gleicher Häufigkeit beobachtet. Unsere Untersuchungen im LMIT konnten jedoch zeigen, daß Crohn-Patienten eine abgeschwächte zelluläre Immunität gegen sterile humane Darmantigene und Common Antigen besitzen. Dies ist mit der Annahme einer T-Zellen-Schwäche bei dieser Erkrankung, die sie von der Colitis ulcerosa unterscheidet, vereinbar.

ad c) Überempfindlichkeit gegen Darmbakterien

1. Art der Antigene

Unter Berücksichtigung des engen Kontaktes von terminalem Ileum und Colon mit Darmbakterien kann angenommen werden, daß diese Keime bzw. ihre Antigene bei der Auslösung der beiden Erkrankungen von Bedeutung sind. Diese Vermutung wird gestützt durch die Tatsache, daß M. Crohn zu 90 % und Colitis ulcerosa zu 100 % in den genannten Darmregionen auftreten und daß antibiotische Substanzen (Salazosulphapyridine, Metronidazol) häufig wirksam sind (74). Das Wirksamwerden bakterieller Antigene setzt die Überwindung der natürlichen Abwehr, des Mucosablocks, durch bisher noch nicht näher bekannte Traumen voraus. GREEN und Mitarbeiter (29) konnten in entzündeten Darmabschnitten Crohn-Kranker eine hochgradige Verminderung von IgA-tragenden Zellen nachweisen. Durch diese fokale Insuffizienz des Mucosa-Blocks wird das Eindringen von Keimen ermöglicht, woraus die Entstehung von Fissuren, Abszessen, Ulcera und Granulomen resultieren könnte. Bakterien wurden von ALUWIHARE (3) elektronenmikroskopisch im Crohngewebe nachgewiesen. Es ist weiterhin denkbar, daß in die Darmwand eingedrungene enterobakterielle Kreuzantigene (CA) die nach unseren Befunden nur schwach ausgeprägte Immuntoleranz gegen Darmgewebe durchbrechen und damit einen autoaggressiven immunologischen Mechanismus in Gang setzen.

2. Gewebsschädigung

Die Interaktion von sensibilisierten Lymphozyten mit enterobakteriellen Antigenen bzw. Colon-Epithelien führt möglicherweise unter Freisetzung biologisch aktiver Mediatoren zur Entzündung des Gewebes der Darmwand. Erfolgt der Kontakt der Effektor-Zellen mit Colonepithelien, so resultiert eine oberflächliche Schleimhautentzündung

(Colitis ulcerosa), dringen kreuzreagierende Antigene jedoch tiefer in die Schleimhaut ein, so folgt eine transmurale Entzündung vom Typ des M. Crohn.

3. Remissionen der Krankheitsbilder könnten aufgrund einer Immuntoleranz unterschiedlicher Dauer durch die kontinuierliche Freisetzung enterobakterieller Antigene eintreten. Weiterhin wäre aber auch eine Suppression zellulärer Immunreaktionen durch die Induktion einer humoralen Immunität denkbar. Diese Annahme wird durch das in unseren Untersuchungen besonders häufig zu beobachtende reziproke Verhalten von humoraler zu zellulärer Immunität bei beiden Erkrankungen unterstützt.

ZUSAMMENFASSUNG

Mit Hilfe des Leukozyten-Migrations-Inhibitionstests in der Zweiphasentechnik konnten bei Patienten mit Colitis ulcerosa in 73 - 93 %, bei Lebercirrhose in 64 - 91 % der Fälle eine zelluläre Immunität gegen Common Antigen bzw. menschliche fetale Dünn- und Dickdarmantigene nachgewiesen werden. Nicht immunsuppressiv behandelte Crohn-Patienten zeigten dieses Verhalten in 38 - 50 % der Fälle bei Verwendung von intestinalen Antigenen (signifikanter Unterschied zum Normalkollektiv: $p < 0,05$, und zur Colitis-Gruppe: $p < 0,01$). Crohn-Kranke unter Immunsuppression unterschieden sich statistisch nicht von Normalpersonen. Etwa 30 % der Crohn- und Colitis-Kranken hatten erhöhte Antikörper-Titer gegen humane intestinale Antigene und Common Antigen. Ein hoher Prozentsatz von Patienten beider Krankheitsgruppen zeigte ein reziprokes Verhalten von zellulärer zu humoraler Immunität.

Folgerungen:

1. Unter Verwendung von menschlichen Darmantigenen und Common Antigen im LMIT lassen sich M. Crohn und Colitis ulcerosa weitgehend voneinander abgrenzen.
2. Das Auftreten einer zellulären Immunität gegen Darmantigene bei Colitis ulcerosa und, in geringerem Maße, auch bei M. Crohn kann nicht als alleiniges pathogenetisches Prinzip angesehen werden.
3. Gegenüber Darmantigenen besteht grundsätzlich nur eine schwach ausgeprägte Immuntoleranz.
4. Bei Patienten mit Lebercirrhose muß eine Störung der physiologischen Eliminationsfunktion des Organs für portal anfallende Antigene vermutet werden.

LITERATUR

1. ACHESON, E.D.:
An association between ulcerative colitis, regional enteritis and ankylosing spondylitis.
Quarterly J. Med. 29, 489 (1960)
2. ALMY, T.P., O. SHERLOCK:
Genetic aspects of ulcerative colitis and regional enteritis.
Gastroenterology 51, 757 (1966)
3. ALUWIHARE, A.P.R.:
Electron microscopy in Crohn's disease.
Gut 12, 509 (1971)
4. ARNOLD, W., O. MÜLLER, H. v. MAYERSBACH:
Makropinozytose und immunologische Inaktivierung von intravenös injiziertem Human-IgG in der Mäuseleber.
Inn. Med. 3, 168 (1974)
5. BENDIXEN, G.:
Specific inhibition of the in vitro migration of leucocytes in ulcerative colitis and Crohn's disease.
Scand. J. Gastroent. 2, 214 (1967)
6. BENDIXEN, G.:
Cellular hypersensitivity to components of intestinal mucosa in ulcerative colitis and Crohn's disease.
Gut 10, 631 (1969)
7. BENDIXEN, G., M. SOBORG:
A leucocyte migration technique for in vitro detection of cellular (delayed type) hypersensitivity in man.
Dan. Med. Bull. 16, 1 (1969)
8. BENNET, B., B.R. BLOOM:
Reactions in vivo and in vitro by a soluble substance associated with delayed-type hypersensitivity.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 59, 756 (1968)

9. BINDER, V. et al.:
A genetic study of ulcerative colitis.
Scand. J. Gastroent. 1, 49 (1966)
10. BINDER, H.J., M.D. HOWARD:
Delayed hypersensitivity in regional enteritis and
ulcerative colitis.
Amer. J. Dig. Dis. 11, 572 (1966)
11. BJØRNEBOE, M.:
Anti-salmonella agglutinines in chronic liver disease.
Lancet II, 484 (1971) (Letter)
12. BJØRNEBOE, M., H. PRYTZ:
Antibodies to intestinal microbes in serum of patients
with cirrhosis of the liver.
Lancet I, 58 (1972)
13. BLECOURT, J.J. de, A. POLMAN, T. de BLECOURT-MEINDERSMA:
Heredity factors in rheumatoid arthritis and ankylosing
spondylitis.
Annals of Rheumatic Disorders 20, 215 (1961)
14. BLOOM, B.R., B. BENNET:
Mechanism of a reaction in vitro associated with
delayed type hypersensitivity.
15. BLOOM, B.R., B. BENNET:
Delayed Hypersensitivity in vitro; The Mechanism of
Inhibition by Antigen of cell migration.
Fed. Proc. 25, 934 (1966) (Abstract)
16. BOLTON, P.M., S.L. JAMES, L.E. HUGHES:
Is there impaired immunity in patients with Crohn's
disease?
Brit. J. Surg. 60, 319 (1973)
17. BOLTON, P.M., S.L. JAMES:
The immune competence of patients with inflammatory
bowel disease.
Gut 15, 213 (1974)

18. BROBERGER, O., P. PERLMANN:
Autoantibodies in human ulcerative colitis.
J. Exp. Med. 110, 657 (1959)
19. BROBERGER, O., P. PERLMANN:
In vitro studies of ulcerative colitis.
I. Reactions of patients' serum with human fetal
colon cells in tissue culture.
J. Exp. Med. 117, 705 (1963)
20. BROSTOFF, J.:
Migration inhibition studies in human disease.
Proc. Roy. Soc. Med. 63, 905 (1970)
21. BULL, D.M.:
Enterobacterial Common Antigen-induced lymphocyte
reactivity in inflammatory bowel disease.
Gastroenterology 64, 43 (1974)
22. CALDER, E.A., D. Mc LEMAN, E.W. BARNES, W.J. IRVINE:
The effect of thyroid antigens on the in vitro migration
of leucocytes from patients with Hashimoto thyroiditis.
Clin. Exp. Immunol. 12, 429 (1972)
23. CAMPBELL, A.C., J.M. SKINNER, P. HERSEY, P. ROBERTS-
THOMSON, I.C.M. Mac LENNAN, S.C. TRUELOVE:
Immunosuppression in the treatment of inflammatory
bowel disease. I. Changes in lymphoid sub-populations
in the blood and rectal mucosa following cessation of
treatment with Azathioprine.
Clin. Exp. Immunol. 16, 521 (1974)
24. COOKE, W.T.:
Treatment of Crohn's disease with Azathioprine.
Lancet II, 930 (1971)
25. CROHN, B.B., K. GINZBERG, G.D. OPPENHEIMER:
Regional ileitis: a pathological and clinical entity.
J. Amer. Med. Ass. 99, 1323 (1932)

26. DAVID, J.R., H.S. LAWRENCE:
Delayed hypersensitivity in vitro. II. Effect of sensitive cells on normal cells in the presence of antigen.
J. Exp. Immunol. 93, 274 (1964)
27. DAVID, J.R.:
Delayed type hypersensitivity in vitro. Suppression of delayed type hypersensitivity in vitro by inhibition of protein synthesis.
J. Exp. Med. 122, 1125 (1965)
28. EMERY, A.E.H., J.S. LAWRENCE:
Genetics of ankylosing spondylitis.
Journal of Medical Genetics 4, 239 (1967)
29. GREEN, F.H.Y.; H. FOX:
The distribution of mucosal antibodies in the bowel of patients with Crohn's disease.
Gut 16, 125 (1975)
30. JEWELL, D.P., S.C. TRUELOVE:
Azathioprine in ulcerative colitis: an interim report on a controlled therapeutic trial.
Brit. Med. J. 1, 709 (1972)
31. JEWELL, D.P., C.M. Mac LENNAN, S.C. TRUELOVE:
Circulating immunocomplexes in ulcerative colitis and Crohn's disease.
Clin. Exp. Immunol. 14, 219 (1973)
32. JONES, J.V., J. HOUSLEY, P.M. ASHURST:
Development of delayed hypersensitivity to DNCB in patients with Crohn's disease.
Gut 10, 52 (1969)
33. KERAAN, M., O.L. MEYERS, G.H.C. ENGELBRECHT, S. HICKMAN, S.L. SAUNDERS, J. TERBLANCHE:
Increased immunoglobulin levels following portocaval shunt in the normal rat.
Gut 15, 468 (1974)

34. KIRSNER, J.B., J.A. SPENCER:
Familial occurrences of ulcerative colitis, regional enteritis and ileocolitis.
Annals of Internal Medicine 59, 133 (1963)
35. KISSMEYER-NIELLSEN, F., K.E. KLERBYE:
Lymphotoxic microtechnique: Purification of lymphocytes by flotation.
Histocompatibility testing, p. 381
Copenhagen: Munksgaard 1967
36. KUNIN, C.M., M.V. BEARD, N.E. HALMAGYI:
Evidence of a common hapten associated with endotoxin fractions of E. Coli and other enterobacteriaceae.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 111, 160 (1962)
37. KUNIN, C.M.:
Separation, characterisation and biological significance of a common antigen in enterobacteriaceae.
J. Exp. Med. 118, 565 (1963)
38. LAGERCRANTZ, R., S. HAMMARSTRÖM, P. PERLMANN, B.E. GUSTAFSON:
Immunological studies in ulcerative colitis.
III. Incidence of antibodies to colon-antigen in ulcerative colitis and other gastrointestinal diseases.
Clin. Exp. Immunol. 1, 263 (1966)
39. LAGERCRANTZ, R., S. HAMMARSTRÖM, P. PERLMANN et al.:
Immunological studies in ulcerative colitis.
IV. Origine of autoantibodies.
J. Exp. Med. 128, 1339 (1968)
40. LAGERCRANTZ, R., P. PERLMANN, S. HAMMARSTRÖM:
Immunological studies in ulcerative colitis.
V. Family studies.
Gastroenterology 60, 381 (1971)
41. LAGRANGE, P.H., G.B. MACKENESS, T.E. MILLER:
Potentiation of T cell-mediated immunity by selective suppression of antibody formation with cyclophosphamid.
J. Exp. Med. 139, 1529 (1974)

42. LAGRANGE, P.H., G.B. MACKENESS, T.E. MILLER:
Influence of dose and route of antigen injection
on the immunological induction of T cells.
J. Exp. Med. 139, 528 (1974)
43. MACKENESS, G.B., P.H. LAGRANGE, T.E. MILLER, T. ISHIBASHI:
Feedback inhibition of specifically sensitized lympho-
cytes.
J. Exp. Med. 139, 543 (1974)
44. MACKENESS, G.B., P.H. LAGRANGE, T.E. MILLER, T. ISHIBASHI:
The modified effect of BCG on the immunological in-
duction of T cells.
J. Exp. Med. 139, 1540 (1974)
45. Mc BRIDE, J.A. et al.:
Ankylosing spondylitis and chronic diseases of the
intestines.
Brit. Med. J. II, 483 (1963)
46. Mc CONNELL, R.B.:
Inflammatory bowel disease and ankylosing spondylitis.
Birth Defects: Original Article Series. The National
Foundation, N.Y. (in press)
47. Mc CONNELL, R.B.:
Genetics of Crohn's disease.
in: Clinics of Gastroenterology Vol. 1, No. 2:
Crohn's Disease., pp 321 (1972)
48. MEYER ZUM BÜSCHENFELDE, K.H., J. KNOLLE, J. BERGER:
Celluläre Immunreaktionen gegenüber leberspezifischen
Antigenen (HLP) bei chronischen Leberentzündungen.
Klin. Wschr. 52, 246 (1974)
49. NERUP, J., ANDERSEN, V., G. BENDIXEN:
Antiadrenal cellular hypersensitivity in Addison's
disease.
Clin. Exp. Immunol. 4, 355 (1973)

50. PERLMANN, P., O. BROBERGER:
In vitro studies of ulcerative colitis. II. Cyto-
toxic action of white blood cells from patients on
human fetal colon cells.
J. Exp. Med. 117, 717 (1963)
51. PERLMANN, P., S. HAMMARSTRÖM:
Antigen from Colon of germfree rats and antibodies
in human ulcerative colitis.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 124, 377 (1965)
52. PERLMANN, P., S. HAMMARSTRÖM, R. LAGERCRANTZ,
D. CAMPBELL:
Autoantibodies to colon in rats and human ulcerative
colitis: cross reactivity with Escherichia coli O14
antigen.
Proc. Soc. Exp. Med. 125, 975 (1967)
53. PRYTZ, H., M. BJØRNEBOE:
Autoantibodies to E. coli in alcoholic and non-alcoholic
patients with cirrhosis of the liver or fatty liver.
Scand. J. of Gastroenterology 8, 433 (1973)
54. RICHENS, E.R., M.J. WILLIAMS, K.R. GOUGH, R.J. ANCILL:
Leucocyte migration studies in Crohn's disease using
Crohn's colon homogenate and mitochondrial and micro-
somal fractions.
Gut 15, 19, (1974)
55. RICHENS, E.R., M.J. WILLIAMS, K.R. GOUGH, R.J. ANCILL:
Mixed-lymphocyte reaction as a measure of immunological
competence of lymphocytes from patients with Crohn's
disease.
Gut 15, 24 (1974)
56. SHORTER, R.G., R.I. SPENCER, A. HUIZENGA, G.A. HALLENBECK:
Inhibition of in-vitro cytotoxicity of lymphocytes from
patients with ulcerative colitis and granulomatous
colitis for allergenic colonic epithelial cells using
horse antihuman thymus serum.
Gastroenterology 54, 227 (1969)

57. SHORTER, R.G., M. CARDOZA, R.I. SPENCER, K.A. HUIZENGA:
Further studies of in-vitro cytotoxicity of lymphocytes from patients with ulcerative colitis and granulomatous colitis for allergenic colonic epithelial cells including the effect of colectomy.
Gastroenterology 56, 304 (1969)
58. SHORTER, R.G., M. CARDOZA, K.A. HUIZENGA, S.G. REMINE, R.I. SPENCER:
Further studies of in-vitro cytotoxicity of lymphocytes for colonic epithelial cells.
Gastroenterology 57, 30 (1969)
59. SHORTER, R.G., M.R. CARDOZA, S.C. REMINE, R.I. SPENCER, K.A. HUIZENGA:
Modification of in-vitro cytotoxicity of lymphocytes from patients with chronic ulcerative colitis and granulomatous colitis for allergenic colonic epithelial cells.
Gastroenterology 58, 692 (1970)
60. SHORTER, R.G., K.A. HUIZENGA, S.C. REMINE, R.I. SPENCER:
Effects of preliminary incubation of lymphocytes with serum on their cytotoxicity for colonic epithelial cells.
Gastroenterology 58, 843 (1970)
61. SHORTER, R.G., K.A. HUIZENGA, R.I. SPENCER, A. AAS, S.K. GUY:
Inflammatory bowel disease: cytotoxic antibody and the cytotoxicity of lymphocytes for colonic cells in vitro.
Amer. J. Dig. Dis. 16, 673 (1971)
62. SHORTER, R.G., K.A. HUIZENGA, R.I. SPENCER, S.K. GUY:
Inflammatory bowel disease: The role of lymphotoxin in the cytotoxicity of lymphocytes for colonic epithelial cells.
Amer. J. Dig. Dis. 17, 689 (1972)
63. SHORTER, R.G., K.A. HUIZENGA, R.I. SPENCER:
A working hypothesis for the etiology and pathogenesis of non specific inflammatory bowel disease.
Amer. J. Dig. Dis. 17, 1024 (1972)

64. SHORTER, R.G.:

Immunological aspects of gastrointestinal disease:
an up-to-date account of inflammatory diseases such
as ulcerative colitis and Crohn's disease.
(In: Progress in Immunology 11. Vol. 4, pp. 209
eds. Brent, L., Holborow, J.)
North Holland Publishing Company, Amsterdam, Oxford (1975)

65. SODOMANN, C.P., H. SCHMIDT, K. HAVEMANN:

In vitro-Untersuchungen über den Einfluß des Migrations-
inhibitionsfaktors (MIF) von Lymphozyten auf periphere
Blutmonocyten und Granulozyten beim Menschen.
Verh. Dtsch. Ges. inn. Med. 77, 384 (1971)

66. SØBORG, M., G. BENDIXEN:

Human lymphocyte migration as a parameter of hyper-
sensitivity in vitro.
Acta Med. Scand. 181, 247 (1967)

67. SØBORG, M.:

In vitro detection of cellular hypersensitivity in man.
Acta Med. Scand. 182, 167 (1967)

68. SUZUKI, T., E.A. GORZYNSKI, E. NETER:

Separation by ethanol of common and somatic antigens
of enterobacteriaceae.
J. Bact. 88, 1240 (1964)

69. THAYER, W.R., M. BROWN, M.H. SANGREE, T.H. HERSH,
J. KATZ:

Escherichia coli O14 and colon haemagglutinating anti-
bodies in inflammatory bowel disease.
Gastroenterology 57, 311 (1969)

70. THOR, D.E., S. DRAY, R.E. JUREZIZ, E. RUSH, M. AQUINO,
S.R. VEACH:

Migration inhibition factor from human peripheral
lymphocytes effective in migration inhibition of
guinea pig macrophages.
Fed. Proc. 27, 264 (1968)

71. TRIGER, D.R., M.H. ALP, R. WRIGHT:
Bacterial and dietary antibodies in liver disease.
Lancet I, 60 (1972)
72. TRIGER, D.R., M. CYAMON, R. WRIGHT:
Studies of the hepatic uptake of antigen.
Immunology 25, 941 (1973)
73. TRIGER, D.R., R. WRIGHT:
Studies on the hepatic uptake of antigen.
II. The effect of hepatoxins on the immune response.
Immunology 25, 951 (1973)
74. URSING, B., C. KAMME:
Metronidazole for Crohn's disease.
Lancet I, 775 (1975)
75. WALKER, J.G., M.F. GREAVES:
Delayed hypersensitivity and lymphocyte transformation
in Crohn's disease and proctocolitis.
Gut 10, 414 (1969) (Abstract)
76. WARTENBERG, J., D. DONIACH, J. BROSTOFF, I.M. ROITT:
Leucocyte migrations inhibition with mitochondria
in human autoimmune disorders.
Clin. Exp. Immunol. 14, 203 (1973)
77. WATSON, D.W., A. QUIGLEY, R.J. BOLTZ:
Effect of lymphocytes from patients with ulcerative
colitis on human adult colon epithelial cells.
Gastroenterology 51, 985 (1966)
78. WATSON, D.W., A. QUIGLEY, R.I. BOLT:
The cytotoxicity of circulating lymphocytes from
ulcerative colitis patients for human colon epithelial
cells: disease specificity and relationship to disease
activity.
Gastroenterology 50, 886 (1966) (Abstract)

79. WILLOUGHBY, J.M.T., D.M. MITCHELL:

In vitro inhibition of leucocyte migration by a sarcoid spleen suspension.

Brit. Med. J. 3, 155 (1971)

Für die freundliche Unterstützung bei der Lösung der
gestellten Probleme danke ich Herrn Professor Dr. Dr.
K.H. Meyer zum Büschenfelde und Herrn Dr. med. Rainer
Eckhardt.

LEBENS LAUF

Am 17.3.1952 wurde ich, Marieluise Klages, als jüngste Tochter des Apothekers Dr. Herbert Heinisch und seiner Ehefrau Marieluise Carola, geb. Cohnen, in Miehlen im Taunus geboren, wo ich auch die ersten sechs Lebensjahre verbrachte.

Meine Familie zog 1958 nach Nassau/Lahn, dort wurde ich im April des gleichen Jahres in die Volksschule eingeschult. Von 1962 an besuchte ich das Goethe-Gymnasium in Bad Ems und legte an dieser Schule im Frühsommer 1970 das Abitur ab. Anschließend arbeitete ich 3 Monate lang als Hilfsassistentin am Carthage College, Kenosha, Wisconsin, USA.

Mein medizinisches Studium begann ich im Oktober 1970 an der Universität Bonn und setzte es ein Jahr später nach bestandenen Vorphysikum an der Johannes Gutenberg-Universität fort; dort legte ich nach 3 weiteren Semestern im Frühjahr 1973 die Ärztliche Vorprüfung ab.

Im Sommer des gleichen Jahres begann ich in der II. Medizinischen Klinik der Universitätskliniken Mainz unter Leitung von Herrn Professor Dr. Dr. Meyer zum Büschenfelde mit den Laboruntersuchungen für die vorliegende Dissertation und konnte sie nach etwa 2 Jahren abschließen.

Seit dem 25.4.1975 bin ich mit dem Rechtsreferendar Guntbert Klages verheiratet.

